Über die Aufnahme von 3,4-Benzpyren durch Kulturpflanzen

---

von

Wolfgang Hessek

aus Beuthen O/S

1966

1966 № 124

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535727_0099

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. M. Knorr

Über die Aufnahme von 3,4-Benzpyren durch Kulturpflanzen

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich - Alexander - Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Wolfgang Hessek
aus Beuthen O/S

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Meinen lieben Eltern

Dekan: Prof. Dr. med., Dr. med. dent. G. Steinhardt

1. Referent: Univ. Doz. Dr. med., Dr. med. dent. W. Gräf
2. Referent: Prof. Dr. med. M. Knorr

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juni 1966

Inhaltsverzeichnis

inleitung ..... Seite 1

echnik ..... " 5

a) Zuführung von 3,4-Benzpyren ..... " 5

b) Kultivierung der Testpflanzen ..... " 6

c) Qualitativer und quantitativer Benzpyrennachweis in den Testpflanzen ... " 7

rgebnisse ..... " 11

a) bei den Hydrokulturen ..... " 11

b) bei den Erdkulturen ..... " 13

iskussion ..... " 18

usammenfassung ..... " 19

iteratur ..... " 20

Einleitung

Nachdem schon Pott 1786 auf die Häufigkeit des Rußkrebses am Hodensack der Schornsteinfeger hingewiesen hatte, war es vor allem Virchow, der schon früh auf die Bedeutung äußerer (= exogener) Einflüsse bei der Entstehung bösartiger Geschwülste hingewiesen hatte. Diese Theorie wurde in den folgenden Jahren von zahlreichen Forschern weiter ausgebaut. Schließlich gelang es 1917 den beiden Japanern Yamagiva und Ichikawa, durch Teerpinselungen im Tierversuch Geschwülste künstlich hervorzurufen und damit die exogene Entstehungsmöglichkeit zu beweisen. Im Jahre 1937 konnten dann aus Steinkohlenteer die ersten kanzerogenen Substanzen rein dargestellt werden (Kennaway und Cook). Es handelte sich um eine Reihe von polycyclischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen, darunter auch die kanzerogene "Standardsubstanz", das 3,4-Benzpyren. (Abb. 1)

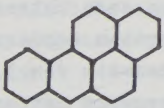

Abb. 1: Strukturformel des 3,4-Benzpyrens.

Nachdem bekannt geworden war, daß kanzerogene Substanzen vom Typ der polycyclischen Aromate aus organischem Material bei hohen Temperaturen und bei der Verbrennung als sog. Pyrolyseprodukte entstehen, richtete sich das Augenmerk aller am Krebs-

problem interessierten Forscher auf die Verunreinigung der Atemluft mit solchen Substanzen, wie sie durch Industrieabgase, Autoauspuffgase und nicht zuletzt durch Zigarettenrauch in zunehmendem Maße die Menschen bedrohen. Auf direkte Beziehungen zwischen dem zunehmenden Kanzerogengehalt der Luft in industriellen Ballungsräumen und dem Anstieg des Lungenkrebses hat u. a. Lawther hingewiesen und damit gezeigt, daß die Verminderung derartiger Verunreinigungsquellen ein ernstzunehmendes Problem darstellt. So konnte Waller in der Luft Londons 4,6 Gamma 3,4-Benzpyren / 100 cbm feststellen, während Kreyberg in Norwegen einen Benzpyrengehalt der Luft über Gaswerken von 200 - 730 Gamma/100 cbm nachzuweisen vermochte.

Die Tatsache, daß als Träger solcher Kanzerogene in unserer Umwelt nicht nur die Luft sondern auch Wasser und Boden fungieren können, hat als Erster M. Knorr in den Blickpunkt des Interesses gerückt. Im Gefolge dieser ersten Publikation erschienen dann eine große Reihe von Arbeiten auf diesem Gebiete (Knorr; Borneff), die u. a. auch den Nachweis von 3,4-Benzpyren in oberflächennahen Erdschichten zum Gegenstand hatten (Borneff u. Fischer; Blumer; Mallet u. Heros). Es lag nahe, solche Befunde mit industrie- und zivilisationsbedingten Verunreinigungen in Zusammenhang zu bringen, zumal das nachgewiesene Vorhandensein von 3,4-Benzpyren in der Luft eine aerogene Verschmutzung leicht möglich erscheinen ließ.

Dementsprechend wurden dann auch Untersuchungsergebnisse gewertet, die nicht nur in Erdproben sondern auch in Pflanzen verschiedenster Art das Vorhandensein von 3,4-Benzpyren und anderen polycyclischen Aromaten ergeben hatten (Binet u. Mallet; Mallet u. Heros; Jung u. Morand). Daß natürlich bei starker Luftimmission solcher Substanzen z. B. in industrienahen Gegenden eine exogene Oberflächenverschmutzung von Pflanzen und ihren Früchten möglich ist, steht außer Zweifel und wurde in letzter Zeit auch experimentell bestätigt (Grimmer u.Hildebrand Bolling). Trotzdem lassen sich die regelmäßigen Funde von 3,4-Benzpyren in allen Pflanzen, auch von solchen aus industrie- und zivilisationsfernen Gegenden, damit nicht ausschließlich klären.

Es war M. Knorr, der wohl als erster auf das auch natürliche Vorkommen solcher Stoffe z. B. in Erdöl und Kohle hingewiesen hat, da es sich ja hierbei als fossile Überreste von Pflanzen und Tieren um reine Naturprodukte handelt. Untersuchungen von Borneff, der im Phytoplankton von Oberflächengewässern polycyclische Aromaten nachweisen konnte und auch bei künstlicher, kanzerogenfreier Kultivierung von Algen zu den gleichen Ergebnissen kam, ließen schließlich die Vermutung aufkommen, daß die Pflanzenwelt selbst zur Synthese dieser Stoffe befähigt ist. Unter diesen Voraussetzungen haben Gräf u. Diehl umfangreiche Untersuchungen über Vorkommen und Herkunft polycyclischer Aromate in Pflanzen und Pflanzenteilen unternommen.

Zunächst wurden Eichen-, Buchen-, Pappel-, Birken- und Tabakblätter untersucht. Dann aber wurden auch Pflanzen bzw. ihre Früchte oder Knollen, die der menschlichen Ernährung dienen wie z. B. Kopfsalat, Kohlrabi, Blumenkohl, Getreide, Kartoffeln, Karotten u. a. in die Untersuchungen mit einbezogen. Das Ergebnis war bei allen genannten Pflanzen überraschend eindeutig. Alle untersuchten Pflanzen bzw. ihre Früchte und Samen enthielten in annähernd gleicher Mengenverteilung 8 fluorescierende, polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe, von denen wenigstens 6 eine sicher nachgewiesene kanzerogene Wirkung entfalten können. Darunter befand sich auch das stark kanzerogene 3,4-Benzpyren (Abb. 2).

In quantitativer Hinsicht ergab sich, daß, bezogen auf 3,4-Benzpyren als "Standardsubstanz", dieser natürliche Normalpegel in der Größenordnung von 1 - 2 Gamma/ 100 g pflanzenorganischer Trockensubstanz liegt. Für Samen, Früchte und Knollen, deren Gewicht überwiegend durch Speichersubstanzen (z. B. Stärke) bestimmt wird, betragen die Benzpyrenmengen allerdings nur etwa den 10. bis 100. Teil der bei vegetativen Pflanzenteilen nachweisbaren Mengen.

	Substanz	cancerogene Aktivität	Strukturformel
1.	Fluoranthen	–	1
2.	1,12-Benzperylen	±	2
3.	3,4-Benzfluoranthen	++	3
4.	10,11-Benzfluoranthen	++	4
5.	11,12-Benzfluoranthen	±	5
6.	Indeno(1,2,3,cd)pyren	+	6
7.	1,2-Benzanthracen	+	7
8.	3,4-Benzpyren	+++	8

Abb. 2: Polycyclische, aromatische Kohlenwasserstoffe, die regelmäßig bei allen Pflanzen in annähernd gleicher Verteilung vorkommen (aus Gräf u. Diehl, Arch. Hyg. 150 1966).

Die Herkunft dieser Substanzen in der Pflanzenwelt konnte in Bilanzversuchen dahingehend geklärt werden, daß sie ohne Zweifel in den Stoffwechselvorgängen, also endogen entstehen: Roggenkörner wurden in einer sicher kanzerogenfreien Nährlösung zur Keimung und zum Wachstum gebracht. Nach 8 Tagen wurden die etwa 20 cm langen Roggenpflänzchen getrocknet und extrahiert. Gleichzeitig wurde die gleiche Anzahl ungekeimter Roggenkörner ebenfalls auf Kanzerogengehalt untersucht. Das Ergebnis war, daß nur in den Sämlingen die bekannten 8 polycyclischen Aromaten in meßbaren Mengen vorhanden waren, während die ungekeimten Körner nur geringste Spuren dieser Stoffe enthielten. Die Substanzen mußten also während des Keim- bzw. Wachstumsvorganges in den Sämlingen entstanden sein. Zu ähnlichen Ergebnissen führten auch Bilanzversuche mit Weizenkörnern und Linsen, sodaß man daraus ableiten kann, daß in der Pflanzenwelt eine dauernde Produktion solcher kanzerogenen Substanzen erfolgt.

Diese Befunde lassen vermuten, daß die genannten Substanzen im Pflanzenstoffwechsel eine bedeutende Rolle spielen. Dies zeigte sich dann auch, als Gräf nachweisen konnte, daß die

Zufuhr von geringsten Spuren von 3,4-Benzpyren (10 Gamma/Liter) bei Hydrokulturen eine wesentliche Wachstumssteigerung gegenüber nicht "gedüngten" Kontrollpflanzen zur Folge hatte. Diese und weitere Düngungsversuche mit 3,4-Benzpyren bei Erdkulturen verschiedenster Pflanzen führten schließlich zu dem Ergebnis, daß dem 3,4-Benzpyren die Funktion eines Pflanzenwuchsstoffes zukommt.

Da der Wirkungsmechanismus dieser Wachstumsbeschleunigung völlig unklar war, schien es uns von wesentlicher Bedeutung zu untersuchen, ob die durch die Pflanzenwurzel aufgenommenen Benzpyrenmengen im Pflanzenstoffwechsel aufgebraucht, umgewandelt oder vielleicht gespeichert werden. Vor allem letztere Möglichkeit wäre von größter hygienischer Bedeutung, da dann Nahrungspflanzen aus industriereichen Gegenden die dort in Boden und Wasser vorhandenen Kanzerogene anreichern und damit beim Genuß ernste gesundheitliche Gefahren mit sich bringen könnten.

Wir haben versucht, die hier aufgeworfenen Fragen zu klären, indem wir einige Kulturpflanzen, die der menschlichen Ernährung dienen, regelmäßig mit geringsten Mengen von 3,4-Benzpyren gedüngt (Hydro- und Erdkulturen) und später die herangewachsenen Pflanzen und ihre Früchte bzw. Körner auf ihren Benzpyrengehalt untersucht haben.

T e c h n i k

a) Zuführung von 3,4-Benzpyren

Das 3,4-Benzpyren gilt, wie alle polycyclischen Aromate als ein völlig wasserunlöslicher Stoff. Während die Resorption und der Transport solcher Substanzen im tierischen und menschlichen Organismus keine Schwierigkeiten bereitet, da hier eine Lösung in Fetten, Ölen oder Lipoiden möglich ist, kann die Aufnahme durch die Pflanzenwurzel auf diesem Wege nicht erfolgen. Die Wasserlöslichkeit ist eine grundsätzliche Voraussetzung für die Resorption von 3,4-Benzpyren durch die Pflanzenwurzel. Zur Löslichmachung des 3,4-Benzpyrens in Wasser sog. Lösungsvermittler zu benutzen, schien uns für unsere Zwecke wenig geeignet, da wir dann mit etwaigen unerwünschten Nebenwirkungen dieser Hilfssubstanzen rechnen mußten. Wir haben daher das von Gräf u. Notthafft beschriebene Verfahren bevorzugt, um geeignete wässerige Benzpyrenlösungen zu erhalten:

Dementsprechend wurde der bei den Hydrokulturen verwendeten Knop'schen Nährlösung und den zum Begießen der Erdkulturen benutzten Aqua dest.-Mengen unter starkem Rühren mittels Magnetrührer 0,05 ml einer 20 mg %igen Azetonlösung von 3,4-Benzpyren pro Liter zugesetzt. Die dabei entstehende wässerige Benzpyrenlösung hat dann eine Konzentration von 10 Gamma/Liter und zeigt unter der UV-Lampe die für Benzpyrenlösungen typische intensiv blauviolette Fluoreszenz, was allgemein für das Anzeichen einer echten Benzpyrenlösung gilt. Bei der Herstellung der Lösung ist besonderes Augenmerk darauf zu richten, daß die Konzentration von 10 Gamma Benzpyren/Liter nicht überschritten wird, weil dann ein Ausfallen der gesamten Benzpyrenmenge zu befürchten ist, was sich unter der UV-Lampe am Umschlag der blauvioletten

Fluoreszenz in eine grau-grünliche Trübung kenntlich macht. Die Benzpyrenlösungen in Wasser müssen bei Verwendung frischbereitet sein, weil bei mehrtätigem Stehen das Benzpyren z. T. ausfallen kann. Die bei der Zubereitung der Lösungen ins Wasser gelangenden Azetonmengen (0,05 ml/Liter Wasser = 0,005 %!) sind so gering, daß sie kaum eine Wirkung ausüben dürften. Trotzdem wurden den Nährlösungen und dem Gießwasser der Kontrollpflanzen die gleiche Azetonmenge ohne Benzpyren zugefügt, um etwaige Störeffekte auszugleichen.

b) Kultivierung der Testpflanzen

Für die Kultivierung der Testpflanzen in Hydrokulturen fand als Nährmedium die sog. Knop'sche Lösung Verwendung, deren Zusammensetzung wie folgt ist:

$Ca(NO_3)_2$	1,00
KNO_3	0,25
KH_2PO_4	0,25
KCL	0,12
$MgSO_4(7H_2O)$	0,25
$FeCl_3$(5%)	1 Tropfen
Aqua dest.	ad 1000,0

Dieser Lösung wurde vor Gebrauch noch 1 ml einer konz. Spurenstoffzubereitung zugesetzt.

Im einzelnen wurde bei der Hydrokultivierung so vorgegangen, daß die Testpflänzchen in kleinen Erlenmeyerkölbchen (50 ml), die 50 ml der Nährlösung enthielten mittels Wattepfropfen so adaptiert wurden, daß die Wurzelgeflechte vollständig in die Nährlösung eintauchten. Bei der bereits beschriebenen Benzpyrenkonzentration der Nährlösung (10 Gamma/Liter) erhielt daher jedes Pflänzchen pro Nährlösungsbeschickung 0,5 Gamma 3,4-Benzpyren angeboten. Um während des Wachstums der Pflanzen durch Lichteinwirkung keine Benzpyrenverluste in der Nährlösung eintreten zu lassen, wurden die Glaskölbchen mit lichtundurchlässigem Metallfolienpapier abgedunkelt. Genauso behandelt wurden natürlich auch die benz-

pyrenfreien Kontrollpflanzen (Abb. 4). Tägliche UV-Lichtkontrollen der benzpyrenhaltigen Nährlösungen ergaben, daß die typische intensivblauviolette Fluorescenz nach spätestens 8 Tagen verschwunden war. Da weder die grau-grüne Trübung von ausgefallenem Benzpyren auftrat, noch aus der verbrauchten Nährlösung Benzpyren zu axtrahieren war, mußte das den Pflanzen angebotene Benzpyren von den Wurzeln aufgenommen worden sein. So entfernten wir alle 8 Tage die verbrauchten Lösungen und setzten den Hydrokulturen frischbereitete, benzpyrenhaltige Nährlösung zu.

Für die Erdkulturen wurden Metallbehälter in den Abmessungen 90 60 15 cm verwendet. In die Kästen wurden gleiche Mengen gesiebter Erde gleicher Herkunft und Qualität gefüllt, damit für alle Testpflanzen gleiche Ausgangsbedingungen gegeben waren. Zur Abschirmung der Pflanzen gegen Regen, Ruß- und Staubimmissionen und andere äußere Einflüsse wurden die Kulturen mit Kunststoffplanen sorgfältig abgedeckt. Die Pflanzen wurden täglich mit einer wässerigen Lösung von 10 Gamma 3,4-Benzpyren pro 1 Liter Aqua bidest. gedüngt. Dabei war darauf zu achten, daß beim Gießen nur die Erde um die Pflanzen, nicht aber die Pflanzen selbst benetzt wurden, um nur durch die Wurzeln eine etwaige Benzpyren-Aufnahme zu gewährleisten. Die Kontrollpflanzen bekamen dagegen nur Aqua dest. mit entsprechend geringstem Azetonzusatz (0,05 ml/Liter).

c) Qualitativer und quantitativer Benzpyrennachweis in den Testpflanzen

Die qualitative und quantitative Bestimmung des Gehaltes an 3,4-Benzpyren erfolgte in allen wesentlichen Punkten nach der Methodik, die Borneff im Verlauf der letzten Jahre ausgearbeitet und beschrieben hat: Das Pflanzenmaterial wurde bei Temperaturen von 60 - 80 ^{o}C getrocknet und dann mittels Porzellanmörser fein pulverisiert. Nach erfolgter Trockengewichtsbestimmung wurde das so zerkleinerte Untersuchungsmaterial für etwa 8 - 10 Stunden im Soxlethapparat

mit Benzol extrahiert (Verwendung fand "Benzol fluoreszens-schwach" der Fa. Merck, das zusätzlich von uns durch mehrfache Destillation gänzlich frei von fluoreszierenden Kohlenwasserstoffen gemacht worden war). Die gewonnenen Benzolextrakte wurden auf etwa 20 ml eingedampft und dann über Al_2O_3-Säulen (20 - 30 cm hoch; Ø : 2,5 cm; neutrales Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe I, Fa. Woelm!) mittels Benzol in Abläufen zu je 50 ml fraktioniert. Anschließend wurden diese Fraktionen eingeengt und papierchromatographisch aufgetrennt. Chromatographiert wurde aufsteigend unter Verwendung von azetyliertem Papier der Fa. Schleicher & Schüll (Nr. 2043 b/21 ac 20 - 25 Acetyl) mit dem Fließmittelgemisch Äther (4): Methanol (4): Wasser (1). Bei diesem Vorgehen war es möglich, die fluoreszierenden Aromate, darunter auch das 3,4-Benzpyren, auf Papierchromatogrammen getrennt zu erhalten. Zur Kontrolle wurden jedesmal 2 Gamma 3,4-Benzpyren neben den Fraktionen aufgesetzt. Die Abbildung 3 gibt in schematisierter Form die papierchromatographisch aufgetrennten fluoreszierenden Aromate einer Extraktionscharge wieder.

Im weiteren Verlauf des Untersuchungsganges wurden aus den Chromatogrammen die unter UV-Beobachtung markierten Substanzflecken, die sich nach Fluoreszensfarbe und Rf-Wert (Vergleichsfleck!) als Benzpyren zu erkennen geben, ausgeschnitten und mit reinstem Benzol quantitativ eluiert.

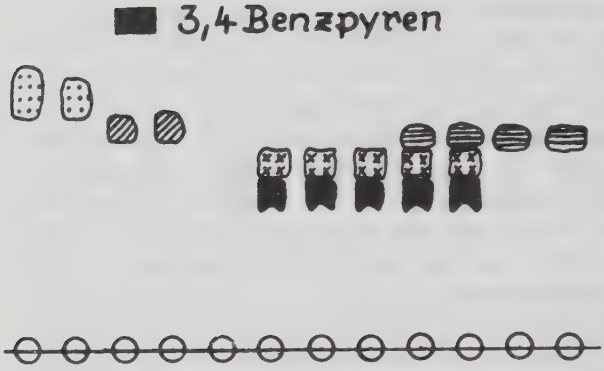

Abb. 3: Die Abbildung zeigt im Schema die papierchromatographische Auftrennung von 10 al_2O_3-Säulenfraktionen eines benzolischen Pflanzenextraktes.

Die Eluate wurden spektralphotometrisch im Wellenbereich von 280 m - 400 m untersucht, d. h. es wurde die in diesem Bereich für 3,4-Benzpyren charakteristische Absorptionskurve ermittelt. (Selbstregistrierendes Spektralphotometer, Modell DK 2 der Fa. Beckmann)

Die Identifizierung der extrahierten Substanz erfolgte nach ihrem papierchromatographischen Verhalten (Rf-Werte),

ihrer typischen Fluoreszensfarbe und den charakteristischen Absorptionskurven. Der Vergleich dieser drei Kriterien an Hand von chemisch reinem 3,4-Benzpyren gestattete eine sichere Bestimmung der isolierten Substanz.

Die quantitative Bestimmung erfolgte durch Extinktionsmessung im Bereich des für Benzpyren charakteristischen Extinktionsmaximums bei 388 m , wobei die Konzentrationen an Hand einer mit Testsubstanz vorher aufgestellten Eichkurve ermittelt wurden.

Bei Verwendung von Mikroküvetten, die bei 1 cm Schichtdicke mit nur 2 ml Messlösung auszukommen gestatteten, war z. B. 3,4-Benzpyren herab bis zu Mengen von 0,2 Gamma exakt bestimmbar.

Da insbesondere bei den Hydrokulturen der zur Verfügung stehenden Pflanzentrockensubstanzen und damit auch die vorhandenen Benzpyren-Mengen oft unter der durch Extinktionsmessung bestimmbaren Grenze lagen, haben wir Vergleichschromatogramme hergestellt, auf denen 3,4-Benzpyren in geringsten, steigenden Konzentrationen aufgetragen waren: 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5 Gamma. Anhand dieser Mengenskala konnten die nicht mehr meßbaren 3,4-Benzpyren-Mengen noch ninreichend quantitativ geschätzt werden.

Alle ermittelten Werte bedürfen, wie schon Borneff gezeigt hat, einer Korrektur, da bei den einzelnen Arbeitsgängen der Auftrennung und Reindarstellung mit nicht unerheblichen Verlusten zu rechnen ist. Wir haben in einer Versuchsserie bei Verwendung vorgegebener Benzpyrenmengen die Verluste bestimmt, die beim Durchgang durch Aluminiumoxidsäulen unserer Versuchsanordnung und bei der Papierchromatographie auftreten. Dabei stellte sich heraus, daß bei verschiedenen Ansätzen ziemliche Differenzen auftraten. Im Durchschnitt ergab sich bei 3,4-Benzpyren im Mengenbereich

von einigen Gamma ein Verlust von 25 % pro Säulendurchlauf und weitere 25 % bei der papierchromatographischen Auftrennung. Unsere Befunde stehen damit in völliger Übereinstimmung mit dem von Borneff angegebenen Korrekturfaktor. Wir haben dementsprechend unsere tatsächlich gemessenen Werte für jeden Säulendurchgang und jede papierchromatographische Auftrennung mit dem Faktor 1,33 multipliziert.

Ergebnisse

a) bei den Hydrokulturen

In der oben beschriebenen Weise wurden als Hydrokultur in 50 ml-Kölbchen eine Serie von je 2 x 5 Kohlrabipflänzchen, Kopfsalatplänzchen und Blumenkohlpflänzchen angesetzt. Die Kultivierung wurde über einen Zeitraum von 7 Wochen vorgenommen. In dieser Zeit erhält jede der Testpflanzen durch 6malige Erneuerung der Nährlösung 6 mal 0,5 = 3 Gamma 3,4-Benzpyren angeboten. Bei jedem Nährlösungswechsel wird die verbrauchte Lösung auf Benzpyrengehalt untersucht. Sie war immer innerhalb 8 Tagen benzpyrenfrei geworden. Bei der Beendigung des Versuchs wurden auch die Glaskölbchen selbst bzw. ihre Innenwand sorgfältig auf Benzpyrengehalt, wiederum mit negativen Ergebnissen, untersucht.

Daraus ist abzuleiten, daß die Pflanzen aus der Nährlösung die darin gelösten 3,4-Benzpyrenmengen resorbiert haben mußten.

Im Verlauf der Versuche zeigte sich besonders bei den Kohlrabipflanzen, in geringem Umfange auch bei Blumenkohlpflanzen, die von Gräf bereits beschriebene Wachstumsförderung bei den Testpflanzen gegenüber den benzpyrenhaltigen Kontrollen (Abb. 4).

Abb. 4: Die Abbildung zeigt den 3,4-Benzpyren-Resorptionsversuch. Links die Benzpyrencharge nach Zufuhr von 0,5 Gamma Benzpyren pro Pflanze. Der wachstumsfördernde Effekt ist erkennbar, eine Benzpyrenanreicherung in den Pflanzen war jedoch später nicht nachweisbar.

Die Salatpflanzen zeigten dagegen ein Kümmerwachstum, das keinen positiven Effekt erkennen ließ.

Nach 7 Wochen wurden schließlich die Pflanzen einschließlich der Kontrolle vorsichtig von der Wurzel getrennt, getrocknet und zusammen wie beschrieben auf Benzpyrengehalt untersucht. Die Wurzeln, die ja ständig sich in der Bp-haltigen Nährlösung befunden hatten, wurden nicht extrahiert, da hier, durch adsorbtionsvorgänge auf ihrer Oberfläche, Bp-Spuren falsche Ergebnisse gebracht hätten.

Die Extraktionsergebnisse waren bei allen der drei gewählten Testpflanzenarten übereinstimmend: Trotz des Benzpyrenangebotes von 3 Gamma pro Pflanze war in keiner der Testpflanzenchargen 3,4-Benzpyren nachweisbar.

Die nach Gräf und Diehl in allen Pflanzen schon unter natürlichen Bedingungen vorkommenden polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe konnten wir deshalb nicht finden, da die für die Extraktion zur Verfügung stehenden Pflanzentrockensubstanzen (0,5 - 1 g!) zu gering waren.

Die Ergebnisse führen zu dem Schluß, daß einerseits die Pflänzchen das über die Nährlösung angebotene 3,4 Benzpyren aufgenommen hatten, daß aber andererseits im Pflanzenstoffwechsel die resorbierten Benzpyrenmengen abgebaut oder umgesetzt worden sein mußten.

Wenn eine Umsetzung erfolgt war, so müßten auf alle Fälle neue Substanzen entstanden sein, die keine Fluoreszenserscheinungen durch UV-Belichtung zeigen, da die Säulenabläufe und Chromatogramme keinerlei fluoreszierende Substanzen erkennen ließen.

Da in der von uns gewählten Form der Hydrokultur eine Kultivierung über längere Zeitdauer und damit ein Ausreifen der Pflanze nicht möglich war, haben wir die Resorptionsversuche in Erdkulturen weiter geführt, um für die nachfolgende Extraktion der Testpflanzen ausreichende Pflanzentrockensubstanzen zu erhalten.

b) bei den Erdkulturen

In der bereits beschriebenen Versuchsanordnung wurden nunmehr Kohlrabipflanzen und Blumenkohlpflanzen als Erdkulturen angesetzt. Die Zufuhr von 3,4-Benzpyren erfolgte wie beschrieben über das täglich dosiert verabreichte Gießwasser in einer Konzentration von 10 Gamma/Liter. Natürlich war unter diesen Umständen die Benzpyrenaufnahme durch die Pflanzenwurzeln nicht exakt dosierbar, da die durch Adsorption

in der Erde verbleibenden Benzpyrenmengen unbekannt waren. Andererseits war aber die stetige Benzpyrenzufuhr in den Erdkulturen wesentlich länger, d. h. bis zur völligen Reife der Pflanzen möglich und damit eine sichere Aussage über das Benzpyrenspeichervermögen der Pflanzen gegeben.

Bei den Kohlrabipflanzen wurden je 11 Pflänzchen in zwei Kästen gepflanzt, wobei der eine Kasten ein tägliches Benzpyrenangebot von 10 Gamma 3,4-Benzpyren erhielt, während der andere Kasten mit benzpyrenfreiem Wasser gegossen wurde. Daß auch auf diesem Wege das 3,4-Benzpyren von den Pflanzen verwertet wurde, ergeb die wiederum zu beobachtende Wachstumsförderung durch Benzpyrenzusatz zum Gießwasser (Abb. 5).

Nach einer Kultivierungszeit von 55 Tagen waren die Kohlrabipflänzchen zur Erntereife mit entsprechender Knollenbildung herangewachsen. Beim Abernten ergab sich bei beiden Chargen ein Gewichtsunterschied zugunsten der mit 3,4-Benzpyren gedüngten Charge von 1 020 zu 1 063 g bei den genzen Pflanzen, von 480 zu 565 bei den Knollen.

Beide Kohlrabichargen wurden getrennt nach Blättern und Knollen in der beschriebenen Weise auf ihren Benzpyrengehalt untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß sowohl in den mit Benzpyren gedüngten wie in den Kontrollpflanzen Spuren von 3,4-Benzpyren neben den bereits von Gräf u. Diehl bei allen Pflanzen gefundenen übrigen Polycyclischen Aromaten, gleichermaßen vorhanden waren. Der Gehalt an 3,4-Benzpyren betrug in den Blättern beider Chargen übereinstimmend etwa 1 Gamma/100 g Trockensubstanz. In den Knollen waren dagegen bei beiden Chargen nur etwa 0,2 Gamma/100 g Trockensubstanz nachweisbar.

Daraus ergibt sich, daß nach einem Benzpyrenangebot von insgesamt 550 Gamma in die Erde der Restpflanzen eine Anreicherung von 3,4-Benzpyren über den natürlichen Normalpegel hinaus nicht erfolgt war.

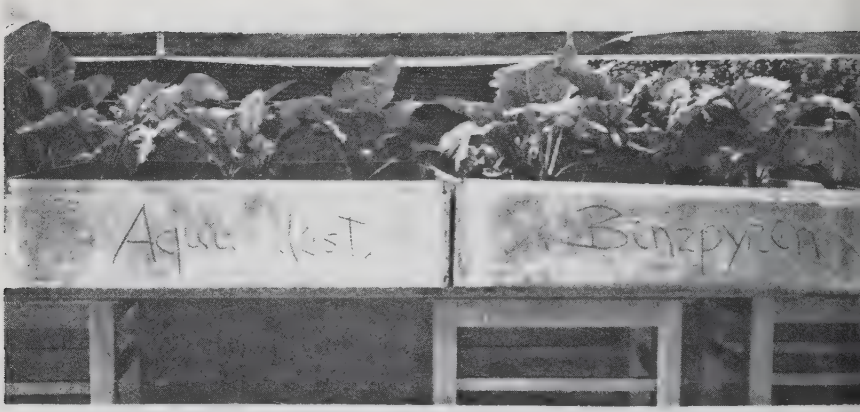

Abb. 5: Kohlrabierdkulturen nach insgesamt 300 Gamma Benzpyrenangebot in die Erde (rechts!) gegen benzpyrenfreie Kontrollkultur (links). Trotz gesteigerten Wachstums ist keine Benzpyrenspeicherung in den Pflanzen erfolgt.

Der gleichzeitig und völlig analog durchgeführte Versuch mit Blumenkohlpflänzchen führte im wesentlichen zu gleichen Ergebnissen. Die Kultivierungszeit betrug hier allerdings 82 Tage, in deren Verlauf die wachstumssteigernde Potenz des Benzpyrens zunächst nicht sehr deutlich zu Tage trat. Bei der Ernte der schließlich gut ausgereiften Blumenkohlpflanzen zeigten jedoch die eßbaren Anteile (= "Blumen") der Benzpyrencharge gegenüber den Normalpflanzen eine bessere Gewichtsausbeute (durchschnittlich 55 zu 45 g).

Die Extraktion sowohl der eßbaren Anteile ("Blumen") wie auch der Blätter führte zu den gleichen Ergebnissen wie bei den Kohlrabipflanzen: Es war wiederum bei beiden Chargen nur der natürliche Anteil an polycyclischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen vorhanden. Eine Benzpyrenanreicherung war trotz des hohen 3,4-Benzpyrenangebotes von etwa 800 Gamma im Verlaufe des Wachstums nicht erfolgt.

Um festzustellen, ob die verhältnismäßig großen Mengen von 3,4-Benzpyren wenigstens zum Teil noch in der zur Kultivierung benutzten Erde vorhanden waren, wurden nach dem Abernten der Blumenkohlpflanzen auch hiervon Proben auf Benzpyrengehalt untersucht. Es konnten nur geringste Spuren von 3,4-Benzpyren nachgewiesen werden, wie man sie üblicherweise in allen humushaltigen Erdproben findet. Daraus läßt sich ableiten, daß das mit dem Gießwasser zugefügte Benzpyren entweder vollständig von den Blumenkohlpflanzen aufgenommen wurde oder, daß in der Erde selbst, z. B. durch mikrobielle Einwirkung das 3,4-Benzpyren zerstört wird. Zur Klärung dieser wichtigen Fragen scheinen uns weitere umfangreiche Untersuchungen notwendig, die den Rahmen der vorliegenden Arbeit bei weitem sprengen würden.

Als letzte Versichsreihe über die mögliche Speicherung von über die Wurzeln aufgenommenem 3,4-Benzpyren in Nahrungspflanzen haben wir auch Erdkulturen von Getreide angelegt.

In vier, mit Erde gefüllte Kulturkästen wurden je zweimal 20 g Weizen bzw. Roggen ausgesät. Wiederum wurde jeweils eine der Kulturen mit benzpyrenhaltigem Wasser (10 Gamma/Liter) täglich gegossen, während die anderen Kulturen als benzpyrenfreie Kontrollen nur mit Wasser gegossen wurden.

Die Weizenkultur wurde nach 92 Tagen abgeerntet, nachdem sich schon während der Wachstumsphase wiederum ein besseres Gedeihen der benzpyrengedüngten Kultur gezeigt hatte (Abb. 6). Auch in der Körnerausbeute war die günstige Wirkung von 34,-Benzpyren zu erkennen (22 zu 19 g!).

Mit ähnlichen Ergebnissen verlief die Versuchsreihe bei den Roggenkulturen, die 98 Tage lang bis zur Körnerreife kultiviert worden waren und ebenfalls unter 3,4-Benzpyren

Abb. 6: Weizenkultur nach etwa 200 mg 3,4-Benzpyrenangebot (rechts) gegen Leerwertkultur (links). Eine Benzpyrenspeicherung war jedoch in den ausgereiften Körnern nicht erfolgt.

eine Wachstumssteigerung und entsprechend größere Körneraus-beute (95 zu 32 g) aufzuweisen hatten (Abb. 7).

Wesentlich war bei beiden Versuchsreihen aber vor allem das Extraktionsergebnis. Es zeigte sich, daß sowohl der mit Benzpyren gedüngte Weizen wie auch die entsprechende Roggen-charge in den reifen Körnern nur geringste Spuren von 3,4-Benzpyren enthielt, die sich aber auch in den Kontrollchar-genkörnern nachweisen ließen und somit als natürlicher Nor-malgehalt angesehen werden müssen. Diese Mengen an 3,4-Benzpyren waren so gering, daß sie nur mittels Vergleichs-chromatogrammen auf etwa 0,02 - 0,03 Gamma/100 g Trocken-substanz geschätzt werden konnten.

Damit ergibt sich auch für die in der menschlichen Er-nährung eine dominierende Rolle spielenden Getreidearten, daß mit den Wurzeln aufgenommenes 3,4-Benzpyren in den rei-fen Körnern nicht angereichert wird.

Abb. 7: Die Roggenkulturen im Reifestadium nach einer Gesamtgabe von 3,4-Benzpyren von etwa 800 Gamma (links) gegen Kontrollkultur (rechts). Keine Benzpyrenanreicherung in den Körnern!

Diskussion

Die an Hydro- und Erdkulturen übereinstimmend gewonnenen Ergebnisse zeigen, daß 3,4-Benzpyren von den Pflanzenwurzeln aufgenommen wird. Trotzdem war bei regelmäßigem Angebot der Substanz über einen längeren Zeitraum hin eine Anreicherung dieses Kanzerogens in Blättern, Knollen und Körnern der getesteten Pflanzen nicht feststellbar. Offenbar wird das resorbierte 3,4-Benzpyren im Pflanzenstoffwechsel umgesetzt. Diese etwaigen neuen Reaktionsprodukte besitzen jedoch keine fluorescierenden Eigenschaften, sodaß ihre Isolierung und Identifizierung auf größte Schwierigkeiten stoßen dürfte. Die bekannte wachstumsfördernde Wirkung des mit den Pflanzenwurzeln in die Pflanzen gelangenden Benzpyrens läßt die Vermutung aufkommen, daß durch Umsetzungsvorgänge wuchshormonähnliche Substanzen entstehen (Gräf).

Die Tatsache, daß eine Kummulation von 3,4-Benzpyren über den natürlichen Pflanzenpegel hinaus auch bei relativ großem Benzpyrenangebot nicht erfolgt, ist von großer praktischer Bedeutung, da besonders in industriereichen Gegenden durch Luftimmissionen und Regenwasser Kanzerogene vom Typ des ,34-Benzpyrens in verhältnismäßig großer Menge in den Boden gelangen und damit den dort wachsenden Kulturpflanzen zur Verfügung stehen. Auf diesem Wege ist also eine Krebsgefährung durch den Genuß von Kulturpflanzen mit industrienahem Standort nicht zu befürchten. Anders hingegen liegen die Verhältnisse, wenn durch die schon einleitend erwähnte Oberflächenverschmutzung von Blättern, Früchten und Körnern durch Industrie-, Autoabgase u. a. die genannten Kanzerogene über den natürlichen Normalpegel hinaus in Nahrungspflanzen bzw. ihren Veredelungsprodukten vorhanden sind. So konnte Bolling in mit Rauchgasen getrockneter Gerste bis zu 1 mg 3,4-Benzpyren pro Kilogramm ermitteln. Ähnliche Ergebnisse erbrachten Untersuchungen von Grimmer u. Hildebrand an verschiedenen Gemüsearten bei industrienahem Standort.

Zusammenfassung

In Hydro- und Erdkulturen wurden einer Reihe von Nahrungspflanzen (Kohlrabi, Blumenkohl, Kopfsalat, Weizen, Roggen) 3,4-Benzpyren in wässerig gelöster Form (10 Gamma/Liter) angeboten.

Die nachfolgende Extraktion der Blätter, Knollen und Körner ergab, daß über den auch bei den Kontrollpflanzen vorhandenen natürlichen Normalpegel hinaus keine Anreicherung der über die Wurzeln aufgenommenen Benzpyrenmengen erfolgt war.

L i t e r a t u r

Bauer, K. H.:	Das Krebsproblem. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1949
Binet L. u. L. Mallet:	Gaz. Hôp. (Paris) 135 (1963): 1142
Blumer M.:	Science, 134 (1961): 474
Bolling H.:	Bericht über die Getreidechemikerausschußsitzung 1964
Borneff J.:	Arch. Hyg. 148 (1964): 1
Borneff, J. u. Fischer:	Arch. Hyg. 146 (1962): 430
Borneff H. u. H. Kunte:	Arch. Hyg. 147 (1963): 401
Gräf W. u. H. Diehl:	Arch. Hyg. 150 (1966): 49
Gräf W. u. G. Nothafft:	Arch. Hyg. 147 (1963): 135
Gräf W.:	Arch. Hyg. 148 (1964): 489
Grimmer G.u.A.Hildebrand:	Dtsch. Lebensmittelrundsch. 61 (1965):237
Hamperl H.:	Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1960.
Kennaway u. Cook:	zit. n. Bauer K.H.
Knorr M.:	Water (Den Haag), 1957, 18, 20.
Knorr, M.:	Schw. Ztschr. f. Hydrol. 14 (1957): 283
Kreyberg, L.:	Brit. J. Cancer 1959, 13, 4 (618-622) Graphs 1, Tables 1.
Lawther P. J.:	Zentralblatt f. Bakteriologie Orig.I 176 (1959)
Mallet L. u. M. Heros:	Compt. Rend. 154 (1962); 958
Pott:	zit. n. Bauer K. H.
Virchow:	zit. n. Bauer K. H.
Waller, R. E.:	Brit. J. Camcer 6 (1952): 8
Vanagiva u. Ichihawa:	z. n. Bauer K. H.

Lebenslauf

Ich, Wolfgang Günter Hessek, wurde am 3. Januar 1940 als Sohn des Facharztes für Orthopädie Dr. Günter Hessek und seiner Ehefrau Ilse, geborene Rother, in Beuthen O/S geboren. Im Februar 1945 flohen wir nach Fürth (Bay.), wo ich im September 1946 in die Volksschule eintrat. Nach 4 Schuljahren wechselte ich im September 1950 in das Humanistische Gymnasium Fürth über, das ich am 19. Juli 1959 mit erfolg absolvierte. Mit dem Wintersemester 1959/60 begann ich das medizinische Studium an der Universität Erlangen. Ende des Sommersemesters 1960 bestand ich den naturwissenschaftlichen Teil der ärztlichen Vorprüfung und Ende des Sommersemesters 1962 das Physikum. Im Wintersemester 1962/63 studierte ich in Wien und anschließend im Sommer 1963 in Innsbruck. Zum Wintersemester 1963/64 kehrte ich an die Universität Erlangen zurück, wo ich nach Ablauf der erforderlichen Semester am 15. März 1966 das medizinische Staatsexamen mit Erfolg abschloß. Seit dem 1. April 1966 bin ich als Medizinalassistent im Stadtkrankenhaus Fürth tätig.

Offset+Fotodruck
- W. Hogi, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 -

Offsetdruck + Fotodruck
– J. Hogl, Erlangen, Brüxer Straße 9, (Nähe Röthelheimbad) Telefon 15336 –